

樹状細胞における細胞表面 MHC-II 分子の発現制御機構

古田 和幸

1. はじめに

獲得免疫応答は、生体に侵入した病原細菌やウイルスなどを排除するため、抗原特異的に活性化される免疫応答である。樹状細胞は、外来抗原を取り込みペプチド断片に分解し、細胞内で主要組織適合抗原クラス II (MHC-II) 分子と抗原の複合体を形成し細胞表面へと発現する。MHC-II に結合した抗原ペプチドは、CD4⁺ T 細胞の T 細胞受容体 (TCR) によって認識され、T 細胞に活性化シグナルが誘導される (抗原提示)。その結果、抗原特異的 T 細胞が増殖・活性化し、獲得免疫応答が誘導される。

抗原を結合した MHC-II の細胞表面への発現は、獲得免疫応答を誘導する上で必要不可欠であり、侵入した抗原を速やかに排除するために、抗原-MHC-II 複合体は効率よく細胞表面に発現される必要がある。一方、T 細胞の無秩序な活性化は生体にとって有害な応答を引き起こすことから、MHC-II の発現は適切に制御される必要がある。ここでは、樹状細胞における細胞表面 MHC-II の発現調節について、最近の研究を紹介したい。

2. 細胞内タンパク質輸送による抗原 MHC-II 複合体の形成

MHC-II はそれぞれ 1 回膜貫通タンパク質である α 鎖と β 鎖のヘテロ二量体であるが、 α 鎖および β 鎖は翻訳後、小胞体内でシャペロンタンパク質であるインバリアント鎖 (Ii) と複合体を形成する。この Ii-MHC-II 複合体は小胞体からゴルジ体を通り細胞膜へと輸送された後、エンドサイトーシスされ、小胞輸送により MHC-II antigen processing compartment (MIIC) と呼ばれる後期エンドソーム様の細

胞内小胞へと輸送される (図 1)。Ii は MHC-II の MIIC への輸送に不可欠なシャペロンタンパク質であり、それと同時に、MHC-II の抗原結合部位を CLIP と呼ばれる領域で物理的に塞ぐことにより、小胞体やエンドソームに存在する内在性のペプチドが輸送過程で MHC-II に結合するのを防ぐ機能も持つ。MHC-II と結合していた Ii は MIIC への輸送過程でエンドソームに存在するカテプシンなどのプロテアーゼによって大部分が分解され、CLIP 領域のみが MHC-II に結合した CLIP-MHC-II となる。

一方、ファゴサイトーシスやエンドサイトーシスにより樹状細胞に取り込まれた抗原タンパク質も小胞輸送により MIIC へと輸送されるが、この輸送過程でエンドソームのプロテアーゼにより MHC-II と結合できるサイズのペプチド断片へと分解される。MIIC では、抗原ペプチドが MHC-II 上の CLIP と交換されることにより抗原-MHC-II 複合体 (pMHC-II) が形成される。こうして形成された pMHC-II が MIIC から細胞表面へと輸送される。細胞表面に発現後 pMHC-II は細胞内へエンドサイトーシスされ、リソソームへと輸送され分解されるか、もしくはリサイクリングエンドソームから再度細胞表面へ輸送される。この輸送のバランスによって細胞表面の MHC-II の発現量が変化すると考えられている (図 1)^{1,2)}。

3. ユビキチン化による細胞表面 MHC-II 発現量の調節

末梢組織に局在する定常状態の樹状細胞 (未成熟樹状細胞) は、ファゴサイトーシスやエンドサイトーシスによる細胞外からの物質取り込み能が高く、周囲に存在するタンパク質などを絶えず取り込んでいる。しかしながら、取り込んだ抗原と複合体を形成した MHC-II は速やかに分解されるため細胞表面への発現量は低い。そのため未成熟樹状細胞の抗原提示能は低い。しかし、樹状細胞が細菌などの病原性の抗原を取り込むと、病原体由来成分が Toll 様受容体 (TLR) を刺激し、樹状細胞は活性化され、「成熟」と呼ばれる樹状細胞の性質の変化が起こる。成熟により細胞表面の MHC-II および CD40, CD86 といった共刺激分子の発現量が上昇し、樹状細胞は高い抗原提示能を持つようになる³⁾。

樹状細胞の成熟に伴う MHC-II の細胞表面発現の増大

岡山大学医歯薬学総合研究科 (薬学系) 生体応答制御学 (〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1)

Regulation of cell surface expression of MHC-II in dendritic cells

Kazuyuki Furuta (Department of Immunochemistry, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan)

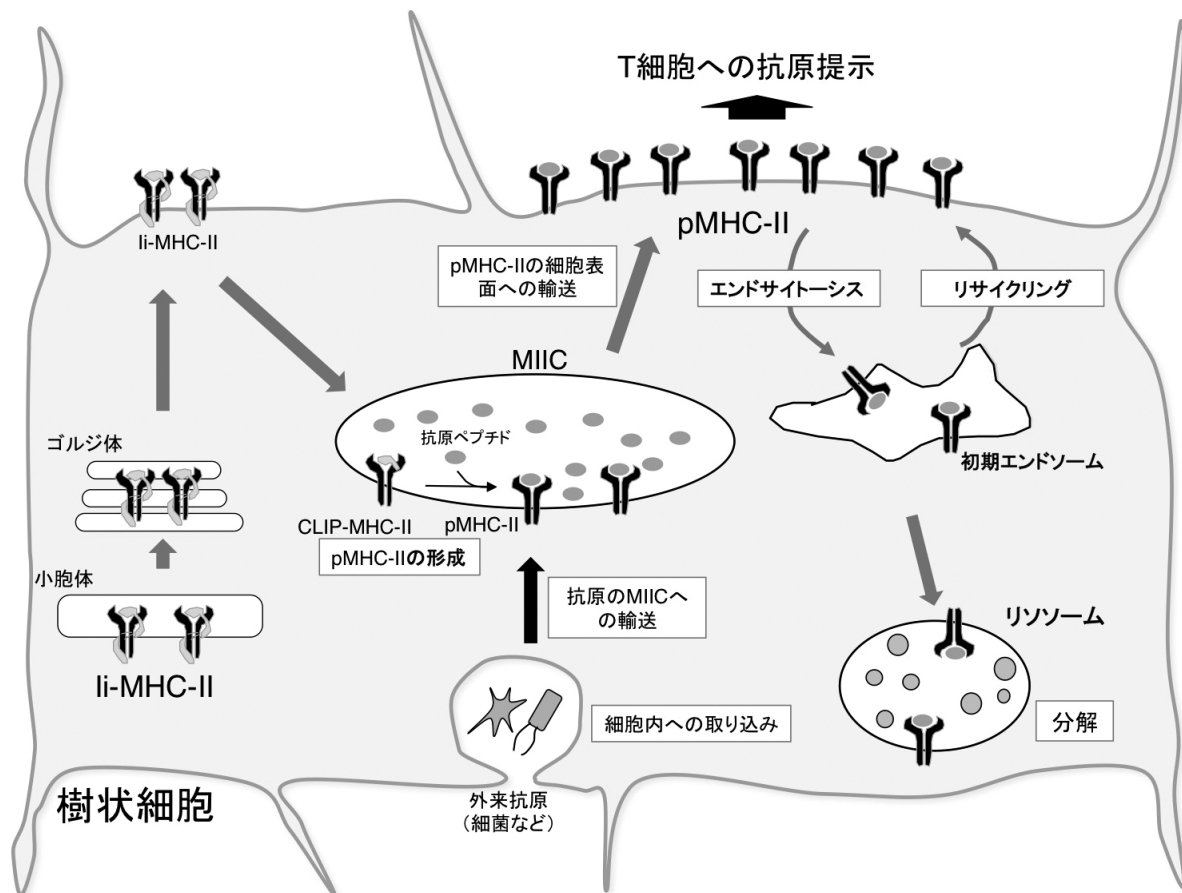


図1 現在考えられている MHC-II の細胞内輸送モデル

小胞体で翻訳された MHC-II $\alpha\beta$ 鎖は Ii と複合体 (Ii-MHC-II) を形成後ゴルジ体を通り細胞表面へと輸送され、その後エンドサイトーシスされ MIIC へと輸送される。この過程で、Ii は分解され CLIP 領域のみが MHC-II に結合した CLIP-MHC-II となる。細胞外の外来抗原は樹状細胞に取り込まれ MIIC へと輸送される。この輸送中を通るエンドソーム内のプロテアーゼにより、抗原はペプチド断片へと分解される。MIIC では、抗原ペプチドと MHC-II の複合体 (pMHC-II) が形成され、細胞表面へと輸送される。その後、細胞表面の MHC-II は、エンドサイトーシスされリソソームで分解されるが、一部は細胞表面へリサイクリングされる。

は、蛍光抗体染色で観察すると、未成熟状態では主に細胞内に局在している MHC-II がほぼすべて細胞表面に局在するという劇的な変化である^{4,5)}。このメカニズムについて、2006 年に、二つのグループが MHC-II のユビキチン化が細胞表面への局在を制御していることを報告した^{6,7)}。すなわち、未成熟樹状細胞では MHC-II β 鎖の細胞質側に存在するリシン残基 (マウスでは 225 番目) がユビキチン化されているが、リポ多糖 (LPS) 刺激により MHC-II のユビキチン化が消失した。また、未成熟樹状細胞にユビキチン化されない変異体 (MHC-II K225R) を導入し発現させると、成熟樹状細胞の MHC-II のように、主に細胞表面に発現した。この結果より、MHC-II のユビキチン化は細胞表面への発現を制御するものと考えられた。ユビキチン化は可溶性細胞質タンパク質のプロテアソームによる分解シグナルとしての役割が有名であるが、膜タンパク質の輸送を制御していることも知られており⁸⁾、MHC-II についてもユビキ

チン化は細胞内輸送を制御していると考えられている。その後の研究により MHC-II のユビキチン化は、RING-CH ファミリーの膜貫通型ユビキチン E3 リガーゼである MARCH-I によってなされることが見いだされた⁹⁾。この MARCH-I は未成熟樹状細胞に高発現しているが、TLR リガンドである LPS や poly (I : C)、ペプチドグリカンなど、樹状細胞の成熟を誘導する刺激により、その mRNA 発現量は低下する。すなわち病原体由来成分による TLR 刺激は、MARCH-I の発現低下を誘導し、その結果 MHC-II のユビキチン化が抑制され、MHC-II の細胞表面への発現の増大へとつながると考えられている^{10,11)}。また、ユビキチン化が細胞表面 MHC-II の発現を変化させるメカニズムについては、ユビキチン化は MHC-II の分解を促進するが、エンドサイトーシスの速度を変化させないことから、MHC-II のユビキチン化の役割はエンドサイトーシス後の MHC-II の輸送を分解方向へと誘導することと考えられて

いる¹²⁾。

このように、成熟刺激による樹状細胞表面の MHC-II の増加は、既に細胞内に存在している MHC-II の分解を止め、発現量を上昇させるという翻訳後調節によるものであり、新たに転写・翻訳を誘導するよりも速やかに T 細胞に外来抗原を提示することができる。この特徴は、生体に侵入した外来病原体への応答に有利に働くものと考えられる。

4. 活性化 T 細胞との相互作用による MHC-II の細胞表面発現低下

著者らは最近、活性化された T 細胞が樹状細胞表面の MHC-II の発現を抑制することを見いだした¹³⁾。実験では

MHC-II に結合した HEL₄₆₋₆₁ ペプチドを特異的に認識する TCR を発現するトランスジェニックマウス (3A9 マウス) 由来の CD4⁺T 細胞を用いた。この 3A9 マウスのナイーブ CD4⁺T 細胞は、MHC-II-HEL₄₆₋₆₁ 複合体を発現する樹状細胞により抗原提示を受けると増殖・活性化が誘導される。この活性化 CD4⁺T 細胞と、MHC-II-HEL₄₆₋₆₁ 複合体を発現する樹状細胞を共培養すると、樹状細胞表面の MHC-II-HEL₄₆₋₆₁ 複合体の発現が低下した (図 2A)。さらに、この活性化 T 細胞で前処理した樹状細胞によるナイーブ T 細胞活性化能を測定したところ、ナイーブ T 細胞活性化能が低下していた。これらの結果は、樹状細胞に抗原提示を受け活性化した T 細胞が、樹状細胞の MHC-II 発現を低下させ、更なるナイーブ T 細胞の活性化を抑制し、過剰な T 細胞活性化を防ぐというネガティブフィードバックの存在

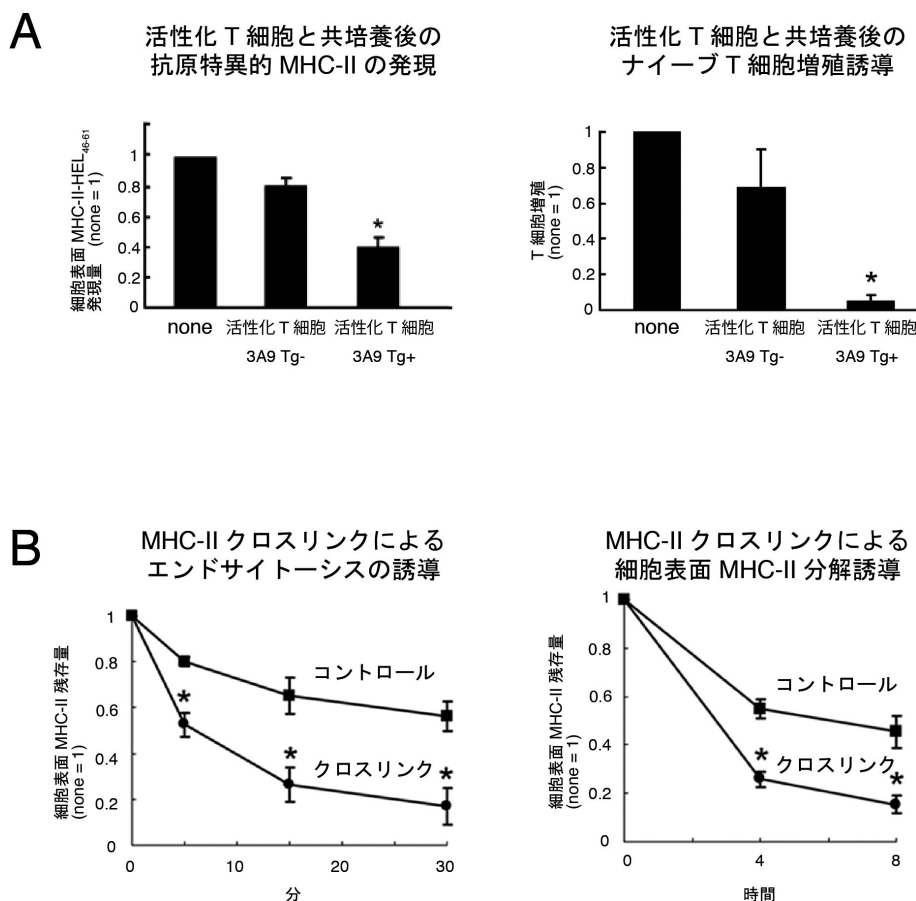


図 2 活性化 T 細胞による樹状細胞表面 MHC-II の発現低下

(A) 骨髄由来樹状細胞に HEL ペプチドを添加し一晩培養後、活性化 3A9 CD4⁺T 細胞と共培養し、樹状細胞表面に発現する MHC-II-HEL₄₆₋₆₁ 複合体の発現量を FACS で測定した (左)。活性化 T 細胞との前培養後、樹状細胞と CFSE 標識した CD4⁺ナイーブ T 細胞を共培養し、ナイーブ T 細胞の増殖を定量した (右)。(B) 樹状細胞を抗 MHC-II 抗体でクロスリンク後、それぞれの時間に細胞表面に残存している抗 MHC-II 抗体を FACS で測定した (左)。細胞表面をビオチンで標識後、抗 MHC-II 抗体でクロスリンクした。それぞれの時間で細胞を回収後、ビオチン化 MHC-II をストレプトアビジンで沈降しウエスタンブロットにより検出、定量した (右)。文献 13 より一部改変。

を示唆するものと考えられた。

5. 樹状細胞表面 MHC-II 発現低下のメカニズム

活性化 T 細胞による樹状細胞 MHC-II の発現低下には抗原特異的 TCR が必要であったことから、MHC-II と TCR の相互作用が必要であると考えられた。抗 MHC-II 抗体とその抗体に対する二次抗体による MHC-II 分子のクロスリンクは、TCR と MHC-II 相互作用を模倣することが知られている。そこで、このクロスリンクを用いて MHC-II 発現低下のメカニズムを解析した。その結果、MHC-II のクロスリンクは、MHC-II 自身のエンドサイトーシスを誘導することが明らかとなった (図 2)。また、細胞表面の MHC-II の分解をビオチン化法によって解析したところ、クロスリンクは MHC-II の分解も促進していた (図 2)。この分解はリソソームプロテアーゼの阻害剤で抑制されることから、クロスリンク後の MHC-II はリソソームで分解されることが考えられた。これらの結果より、TCR と MHC-II の相互作用は、細胞表面 MHC-II のエンドサイトーシスおよびリソソームへの輸送を促進し、結果的に分解が亢進するものと考えられた。

前述の通り、定常状態の樹状細胞では MHC-II のユビキチン化を介する分解が知られており、MHC-II のクロスリンクによる分解でもユビキチン化の関与が考えられた。そこで、MHC-II のユビキチン E3 リガーゼである MARCH-I を欠損する樹状細胞および、MHC-II のユビキチン化部位の変異体 (MHC-II K225R) を発現する樹状細胞を用いて解析を行ったところ、クロスリンクによる MHC-II のエンドサイトーシスおよび分解の促進はユビキチン化の有無に影響を受けなかった¹³⁾。この結果から、クロスリンク後の MHC-II は定常状態における分解とは異なる経路、すなわちユビキチン化非依存的経路によって、リソソームへと輸送され分解されることが考えられる。

6. おわりに

本稿では、樹状細胞における細胞表面 MHC-II の発現量調節メカニズムについて、最近の研究を解説した。ここで紹介したように、樹状細胞は外部からの刺激により、その細胞表面の MHC-II 発現量を変化させ、その結果、必要に応じた適切な免疫応答を調節していると考えられる。すなわち、T 細胞の活性化時には樹状細胞表面 MHC-II の発現が誘導され、一方、T 細胞の活性化収束時には MHC-II の発現が抑制される。T 細胞の活性化調節に関しては、近年、制御性 T 細胞が抑制的に制御していることが明らか

となっている¹⁴⁾。この制御性 T 細胞の抑制メカニズムとして活性化 T 細胞への直接的な抑制作用とともに、樹状細胞に作用し T 細胞の活性化を抑制することも報告されている。この制御性 T 細胞による樹状細胞機能の抑制の詳細なメカニズムは明らかではないが、著者らが見いだした活性化 T 細胞の作用機序と同様に、制御性 T 細胞も MHC-II の発現を抑制するのかもしれない。本稿で紹介した活性化 T 細胞による樹状細胞機能抑制を介したナイーブ T 細胞の活性化抑制の生体における機能は不明であり、活性化 T 細胞による抑制が、免疫応答においてどのような役割を持つのか、また制御性 T 細胞とどのように使い分けられているのかについては、今後の検討課題である。

謝辞

本稿で紹介した研究は、アメリカ国立衛生研究所 (NIH), Paul Roche 博士のもとで行ったものです。関係者の皆様に感謝いたします。

- 1) Trombetta, E.S. & Mellman, I. (2005) *Annu. Rev. Immunol.*, 23, 975-1028.
- 2) Berger, A.C. & Roche, P.A. (2009) *J. Cell Sci.*, 122, 1-4.
- 3) Inaba, K., Turley, S., Iyoda, T., Yamaide, F., Shimoyama, S., Reis e Sousa, C., Germain, R., Mellman, I., & Steinman, R.M. (2000) *J. Exp. Med.*, 191, 927-936.
- 4) Pierre, P., Turley, S.J., Gatti, E., Hull, M., Meltzer, J., Mirza, A., Inaba, K., Steinman, R., & Mellman, I. (1997) *Nature*, 388, 787-792.
- 5) Turley, S.J., Inaba, K., Garrett, W.S., Ebersold, M., Unternaehrer, J., Steinman, R.M., & Mellman, I. (2000) *Science*, 288, 522-527.
- 6) Shin, J.S., Ebersold, M., Pypaert, M., Delamarre, L., Hartley, A., & Mellman, I. (2006) *Nature*, 444, 115-118.
- 7) van Niel, G., Wubbolts, R., Ten Broeke, T., Buschow, S.I., Ossendorp, F.A., Melief, C.J., Raposo, G., van Balkom, B.W., & Stoorvogel, W. (2006) *Immunity*, 25, 885-894.
- 8) Hurley, J.H. & Stenmark, H. (2011) *Annu. Rev. Biophys.*, 40, 119-142.
- 9) Matsuki, Y., Ohmura-Hoshino, M., Goto, E., Aoki, M., Mito-Yoshida, M., Uematsu, M., Hasegawa, T., Koseki, H., Ohara, O., Nakayama, M., Toyooka, K., Matsuoka, K., Hotta, H., Yamamoto, A., & Ishido, S. (2007) *EMBO J.*, 26, 846-854.
- 10) De Gassart, A., Camosseto, V., Thibodeau, J., Ceppi, M., Catalan, N., Pierre, P., & Gatti, E. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 3491-3496.
- 11) Walseng, E., Furuta, K., Goldszmid, R.S., Weih, K.A., Sher, A., & Roche, P.A. (2010) *J. Biol. Chem.*, 285, 41749-41754.
- 12) Walseng, E., Furuta, K., Bosch, B., Weih, K.A., Matsuki, Y., Bakke, O., Ishido, S., & Roche, P.A. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 20465-20470.
- 13) Furuta, K., Ishido, S., & Roche, P.A. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 19380-19385.
- 14) Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., & Ono, M. (2008) *Cell*, 133, 775.

著者寸描

●古田和幸（ふるた かずゆき）



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）助教。博士（薬学）。

■略歴 1977年長崎県に生る。2001年京都大学薬学部卒業。06年同大学院薬学研究科博士後期課程修了。06～08年武庫川女子大学オープンリサーチセンター博士研究員。08～12年アメリカ国立衛生研究所（NIH）研究員。12年より現職。

■研究テーマと抱負 樹状細胞による抗原提示機能調節メカニズムの解析。樹状細胞など免疫細胞による免疫応答調節の詳細なメカニズムを生化学、細胞生物学の手法により明らかにしたいと考えています。

■ホームページ <http://pharm.okayama-u.ac.jp/lab/meneki>

■趣味 旅行。